Ueber die Spezifität der Saccharasen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt

von der Philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

Vorgelegt von

FRITZ LÖW

aus Kirchheimbolanden

Pfalz

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1933

Tag der Promotion: 14. Oktober 1933

27

Referenten:

Professor Dr. H Pringsheim

Hofrat Professor Dr. W. Schlenk

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern

Ueber die Spezifität der Saccharasen.

Der Begriff der Spezifität, welcher heutzutage bei biologischen Reaktionen eine so bedeutsame Rolle spielt, wurde für Biokatalysatoren wohl zum ersten Male zur wissenschaftlichen Bedeutung erhoben, als Emil Fischer mitteilte, daß das α- und β-Methylglukosid, die beiden nicht einmal konstitutionell sondern nur konfigurativ von einander verschiedenen Laktolide der Glukose, von zwei prinzipiell verschiedenen Enzym-Präparaten hydrolysiert werden. Das auf α-Methylglukosid wirksame Agenz fand Emil Fischer in den wässrigen Auszügen der Hefe, das auf β-Methylglukosid eingestellte im Emulsin der bitteren Mandeln. Er nannte die beiden in diesen Fundstätten enthaltenen Enzyme entsprechend ihrer Wirkung α- und β-Methylglukosidase. Wir wissen heute, daß seinen Fermentpräparaten unzweifelhaft verschiedene andere Fermente beigemischt waren.

Die sterische Unterscheidung der Methylglukoside wurde nun von Emil Fischer auch auf die Disaccharide übertragen, und diese in zwei entsprechende Gruppen eingeteilt, wodurch z. B. die Maltose den α-Glukosiden, und die Cellobiose, Gentiobiose und der Milchzucker den β-Glukosiden zugesellt worden sind. Emil Fischer hat sich aber sehr wohl gehütet, die α-Glukosidase mit dem Maltose-spaltenden Ferment, der „Maltase", und die β-Glukosidase mit der „Cellobiase" und der „Laktase" zu identifizieren.

Setzen wir nun voraus, daß es eine unbedingte und absolute Spezifitätsunterscheidung gibt, die zwischen den Fermentklassen besteht, welche Stoffe ganz verschiedener Natur wie Fette, Proteine, Polysaccharide usw. spalten, so läßt sich darüber hinausgehend auch wohl heute noch der Begriff der absoluten Spezifität als Charakteristikum der α- und β-Glukosidasen festhalten und die These aufstellen, daß die ersteren unter keinen Umständen β-Glukoside und die zweiten unter keinen Umständen α-Glukoside zu hydrolysieren imstande sind. Wenn, wie in einem Einzelfalle gezeigt wurde,[1]) der Auszug einer trockenen Hefe der Schöneberger Schloßbrauerei Gentiobiose im Reversionsversuch zu synthetisieren oder dieses Disaccharid in verdünnter Lösung auch zu hydrolysieren imstande ist, dann muß auf die für die meisten Hefen nicht geltende Anwesenheit eines β-glukosidischen Ferments geschlossen werden,

1) Pringsheim, Bondi u. Leibowitz, Ber. 59, 1983, 1926.

wenn andererseits ein schon hochgereinigtes Emulsin-Präparat noch α-Phenol-d-Galaktosid spaltet, so gelingt schließlich doch die Abtrennung der α-Galaktosidase.[2])

In neuerer Zeit wird nun von Weidenhagen[3]) eine an sich bestechende und durch zumteil sehr gelungene Experimente gestützte Theorie über die Spezifität der Saccharasen entwickelt, der zufolge zwischen Glukosidasen und Carbohydrasen nicht unterschieden werden kann: α-Glukosidase sei gleich Maltase, und sie wirke überall da enzymatisch spaltend, wo ein α-Glukosido-Rest an ein Glykogen oder A-Glykon gebunden ist, und ebenso könnte die Spezifität der β-Glukosidase auf alle Polysaccharide ausgedehnt werden, in denen ein unsubstituierter β-Glukosido-Rest vorhanden sei. Ja, Weidenhagen geht in seinen Schlußfolgerungen so weit, auch die „Polyasen" mit den Glukosidasen identisch zu erklären, und z. B. für die enzymatische Hydrolyse des Inulins die β-h-Fruktosidase verantwortlich zu machen, welche begabt mit einer Affinität für den Frukto-Furanose-Rest des Rohrzuckers diesen zu spalten vermag. Zu seinen gelungensten Experimenten gehört der Nachweis, daß die Trennung der Saccharase von der Maltase der Hefe, welche von Willstätter[4]) durchgeführt wurde, eigentlich eine Abtrennung dieses Fermentes von der α-Glukosidase bedeutet hat, und daß in der Tat der Rohrzucker, wie das schon Kuhn auf Grund von Hemmungsversuchen annahm, von zwei spezifisch verschiedenen Fermenten spaltbar ist. Das eine dieser beiden ist die β-h-Fruktosidase, die zufolge dem Weidenhagen'schen Versuche auch bei sehr starker Anreicherung auf α-Glukosid unwirksam bleibt, und das zweite ist ein anderer enzymatischer Bestandteil der Hefe, den Weidenhagen für identisch mit der α-Glukosidase erklärt, was jedoch von anderer Seite noch nicht unbedingt anerkannt wird.[5])

In den nun folgenden Betrachtungen wollen wir in die Diskussionen des Spezifitätsbegriffes jedenfalls nicht die Hemmungsversuche, die mit hydrolytischen Spaltprodukten der Sacharasen, z. B. α- oder β-Glukose oder Fruktose bei der Rohrzucker-Spaltung ausgeführt worden sind, hineinziehen. Sie haben zu sehr widerspruchsvollen Ergebnissen geführt, was ja in Anbetracht des Um-

---

2) Helferich u. Appel, Z. f. physiol. Chem. **205**, 247, 1932.

3) Weidenhagen, Zeitschr. d. Vereins d. deutschen Zuckerindustrie; **78**, 788, 1928; **79**, 116, 1929; **80**, 12, 1930. Ergebnisse der Enzymforschung, Leipzig 1932.

4) Willstätter u. Bamann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **151**, 273, 1925/26. 1925/26.

5) Vgl. z. B. Myrbäck: Homogene Katalysen II, Enzymatische Katalysen, Sammlung Göschen 1031, 1931, S. 41,

standes, daß normale Fruktose gar keinen Bestandteil des Rohrzucker-Moleküls darstellt, nicht zu verwundern ist.

Nach den Untersuchungen von Willstätter[6]) kann man annehmen, daß die α-Glukosidase mit der Hefe-Maltase identisch ist, wenn auch bezüglich der Kinetik der Ferment-Hydrolyse dieser beiden Substrate absolute und bei verschiedenen Hefen wechselnde Unterschiede bestehen. Wenn Münchener Löwenbräu-Hefe Maltose und α-Methylglukosid im Verhältnis von 8,3 : 13,3, Kopenhagener Hefe diese beiden jedoch mit einer relativen Geschwindigkeit von 3,3 : 27 spaltet, so wird angenommen, daß dies nicht durch einen Spezifitätsunterschied zwischen den beiden Fermenten bedingt ist, sondern daß hierfür eine verschiedene Affinität des Fermentes zu diesen beiden Substraten verantwortlich gemacht werden kann. Die hier zugehörigen, zuerst von Michaelis entwickelten theoretischen Unterlagen sind durch Messungen bedeutender Enzym-Forscher, wie Euler, Kuhn und anderer experimentell wohl begründet. Ganz gleichlaufende Ueberlegungen und Versuche gestatten es auch, das in der Hefe vorhandene, den Rohrzucker und die Raffinose-spaltende Ferment als identisch zu erklären. Erkennt man nun die Identität der α-Glukosidase mit der Hefe-Maltase an, so kommt man mit der α-Glukosidase und dem entsprechenden α-glukosidischen Rohrzucker-spaltenden Fermente schon in Schwierigkeiten, weil verschiedentlich gezeigt werden konnte,[7]) daß gewisse Colibakterien ein Enzym enthalten, das Maltose schnell spaltet ohne auf Rohrzucker die geringste Wirkung zu haben. Die Erklärung hierfür dürfte wohl in der Beobachtung gefunden werden, daß es in verschiedenen Naturprodukten, z. B. im Gerstenmalz wie in den Mycelien des Aspergillus orycae und Wentii[8]) Fermente gibt, welche zwar Maltose, aber nicht α-Methylglukosid zu spalten imstande sind. Von Leibowitz wurde die Annahme gemacht, daß es sich in diesem Falle um ein Ferment handelt, welches eine Enzym-Substrat-Verbindung mit der Maltose vom Glukose-Teil her bildet im Gegensatze zu der die Maltose vom Glukosido-Teil her spaltenden α-Glukosidase. Die Gersten-Maltase wurde in Analogie zu einem früheren Vorschlage von Armstrong, der für die Milchzucker-Spaltung eine „Galakto-Laktase" und eine „Gluko-Laktase" unterschieden hat, als Gluko-Maltase aufgefaßt, eine Anschauung,

---

6) Willstätter, Kuhn u. Sobotka, Z. f. physiol. Chem. **134**, 224, 1924.

7) Karstroem, Dissertation Helsingfors 1930; Biochem. Z. **223**, 399, 1931. Myrbäck, Z. f. physiol. Chem. **198**, 196, 1931.

8) Pringsheim u. Leibowitz, Biochem. Z. **161**, 456, 1925; Leibowitz, ebenda **149**, 184, 1925; **154**, 64, 1926; Pringsheim, Borchardt u. Löw, Z. f. physiol. Chem. **202**, 23, 1931; Myrbäck, ebenda **205**, 248, 1932.

welche heutzutage auch in die kurzen Leitfäden der Ferment-Chemie übergegangen ist.[9])

Die Frage taucht danach auf, ob sich gegenüber diesen experimentell wohl unwiderleglichen Befunden die Theorie von Weidenhagen über die Identität der Glukosidasen mit den Oligo-Saccharasen oder gar Polyasen noch aufrecht erhalten läßt, und sie wird in ihrer Verallgemeinerung zu einem Prüfstein der allgemeinen Spezifitäts-Theorie. Helferich läßt die Beantwortung auf Grund seiner neuesten Spaltungsversuche mit der β-Glukosidase des Emulsins an einer ganzen Zahl von Substraten noch offen. Aber bei der genauen Lektüre seiner Darlegungen merkt man doch, daß er dem Weidenhagen'schen Standpunkte zuneigt und bei Annahme der Identität zweier Saccharasen, welche verschiedene Glukoside mit großer, zumteil sogar enorm großer Verschiedenheit in der Geschwindigkeit spalten, lieber zwischen absoluter und relativer Spezifität unterscheiden möchte als die gemeinsame Spezifität abzulehnen. Iedenfalls wil er nicht den extremen Standpunkt vertreten, daß man schon jetzt genötigt ist, im Emulsin neben der β-Glukosidase eine β-Galaktosidase anzunehmen, sondern er meint, daß die „Identität" dieser beiden Enzyme durch seine Versuche noch wahrscheinlicher gemacht worden ist.

Wenn also von Karstroem in Colibakterien kein Rohrzucker-spaltendes und von mir im Mycel des Aspergillus Wentii kein α-Methylglukosid spaltendes Ferment aufgefunden wurde, so wäre Weidenhagen nach diesen Vorstellungen immer noch berechtigt, die Identität der Maltase mit der Saccharase und der α-Glukosidase mit der Gersten- oder Aspergillus-Maltase anzunehmen, sie als relativ zu charakterisieren und die Behauptung aufzustellen, daß das Versagen der Ferment-Wirkung in den beiden genannten Fällen nicht zurückzuführen sei auf eine Abwesenheit der spezifischen Fermente, sondern nur auf ihre sehr stark herabgeminderte Affinität zu den respektiven Substraten und daß bei genügender Ferment-Anreicherung schließlich eine geringe Spaltbarkeit von Maltose resp. α-Methylglukosid noch zu erreichen gewesen wäre. Man sieht, daß man an dieser Stelle an einem Kreuzwege angelangt ist, an dem sich zwei Gedankenrichtungen trennen müssen: die eine leugnet die Identität ab, wenn z. B. wie im Falle der α-Methylglukosidase und der Gersten-Maltase eine Spaltung des α-Glukosids auch dann nicht mehr nachweisbar ist, wenn man noch den 100. Teil der Affinität der Maltase zum Glukosid zur Voraussetzung macht, die andere macht hierbei nicht halt: sie erkennt noch die

9) Myrbäck, Enzymatische Katalysen l. c. S. 52.

Identität zweier Fermente an, wenn, wie im Falle der angereicherten β-h-Fruktosidase Inulin nur mit der 7500. Geschwindigkeit des Rohrzuckers gespalten wird.[10]). Theoretisch mag letzterer Auffassung keine Grenze gezogen sein, aber praktisch liegen die Dinge doch anders, denn dann kann man mit Weidenhagen immer den Standpunkt vertreten, daß die Fermentkonzentration ungenügend war, um aus der negativen Spaltung den Beweis zu führen. daß überhaupt keine hätte eintreten können. In den seltensten Fällen wird es lohnend sein, die Anreicherung des Enzyms so weit zu treiben, daß ein Affinitätsvergleich von 1 : 7500 noch möglich ist, und die Folge davon wäre, daß sich experimentelle Untersuchungen über das Spezifitätsproblem überhaupt noch kaum als lohnend erweisen würden. Im übrigen gehen in den Untersuchungen Helferichs unter den gemachten Voraussetzungen die Affinitätsunterschiede noch wesentlich weiter, wenn man für die β-Glukosidase des Emulsins die Identität gegenüber verschiedenen Substraten annimmt. So erfolgt die 50%ige Spaltung durch dasselbe Ferment von Salicin in 0,0005 und die von β-Methyl-d-Xylosid erst in 50 Tagen, also in einem Verhältnis von 1 : 100 000. Ist es unter diesen Umständen nicht ebenso verläßlich die Annahme zu machen, daß in der Hefe eine Inulinase in großer Verdünnung und in dem Enzym der bitteren Mandeln eine spezifische Xylosidase in noch viel größerer Verdünnung vorhanden war. Hierzu muß bedacht werden, daß die Auffindung einer Maltase im Gersten-Malze und einer β-Glukosidase in der Hefe seinerzeit eine Ueberraschung war, daß das Vorhandensein eines α-glukosidischen Fermentes im Emulsin gewiß unerwartet ist, und daß Naturstoff-Extrakte aus bisher noch nicht kontrollierbaren Umständen recht häufig verschieden mit Fermenten versorgt sind. Manchmal enthält z. B. eine Rasse Penicillium purpurogenum in ihrem Mycel eine Saccharase und in anderen Fällen läßt sich kein derartiges Ferment antreffen.

Besonders kompliziert werden aber die Verhältnisse, wenn man berücksichtigt, daß die natürliche Ferment-Produktion keineswegs auf phylogenetischer Grundlage beruht. Zwar ist es richtig, daß einzellige Lebewesen wie die Hefe, Aspergillus orycae und andere Sammelorgane für eine ganze Zahl von Fermenten sind, während andererseits im differenzierten Organismus höherer, besonders tierischer Lebewesen, eine Verlegung einzelner spezifischer Fermentwirkungen in die verschiedenen Organe beobachtet werden kann, andererseits aber gibt es doch jetzt schon eine große Zahl von Natur-fremden Substraten, die einer enzymatischen Spaltung

10) Weidenhagen, Naturw. **20.** 65, 1932.

unterliegen und mit denen die Fermente an ihren Bildungsstätten sicherlich niemals zusammenzutreffen Gelegenheit hatten, wie beispielsweise β-Methylglukosid-6-Bromhydrin respektive 2-Bromhydrin oder 2-Desoxymethyl-Xylosid oder Maltoson, Maltobionsäure und andere. Ja, die Spaltbarkeit derartiger Natur-fremder Substrate kann sogar eine vergleichweise sehr begünstigte sein, wie Helferich an den Phenol-Glukosiden gezeigt hat.

Unter den geschilderten Umständen erscheint es wenig verlockend, den Widerstreit der Meinungen über das Spezifitätsproblem zu einer wissenschaftlichen Kontroverse ausarten zu lassen. Schließlich wäre man ja völlig berechtigt, nach den vorgebrachten Gesichtspunkten auch die Spezifität der Eiweiß-spaltenden Fermente, die uns in den Versuchen von Waldschmidt-Leitz, Grassmann, Lindstroem-Lang u. a. zu einem so bemerkenswerten Fortschritte der Eiweiß-Chemie geführt hat, abzustreiten und z. B. die 100 000-fache Anreicherung der Carboxy-Polypeptidase zu verlangen, ehe man sie von der Aminopolypeptidase unterscheiden kann.

Man könnte nun seine Hoffnung in die Zukunft setzen und abwarten, bis man zur Isolierung einheitlicher Fermente fortgeschritten ist. Aber bei dem heutigen Stande unserer Kenntnis scheint auch diese Hoffnung trügerisch. Denn die Willstätter'sche Annahme, daß die wirksame Gruppe der Fermente an einen hochmolekularen kolloidalen Träger gebunden ist, vermindert die Wahrscheinlichkeit der Isolierung und der Vergleichsmöglichkeit r e i n g e w o n n e n e r Fermente. Nehmen wir an, der Träger sei eine kolloidale Eiweiß-Substanz, so müssen wir uns von dem heutigen Standpunkte der Beurteilung hochmolekularer Naturstoffe zu dem Standpunkt bequemen, daß man solche untereinander überhaupt nicht identisch befinden kann. Ebenso wie die Cellulose in ihrem Mycele durch übermolekulare Kräfte verbundene, v e r s c h i e d e n l a n g e Cellobiose-Ketten enthalten kann, ebenso müssen wir annehmen, daß ein hochmolekulares Protein aus verschieden langen und sogar vielleicht heterogen zusammengesetzten Peptid-Ketten vielleicht aus verschiedenen Aminosäuren besteht. An einem solchen Gebilde haftet nun die für das Ferment wirksame Gruppe. Selbst wenn man die Annahme macht, daß diese mit einer definitiv chemischen Konstitution begabt und in ihrer Wirksamkeit von der möglichen Heterogenität ihres kolloidalen Trägers unabhängig sei, könnte man erst nach der Bloßlegung und chemischen Charakterisierung des spezifisch wirksamen Ferment-Anteils von einer chemischen Identität sprechen. Und diese Vorstellung wird noch wesentlich komplizierter, wenn man die Möglichkeit in Berücksichtigung zieht, daß

an ein und demselben kolloidalen Träger mehrere spezifisch wirksame Ferment-Gruppen haften und daß sich an ihrer Wirkung Aktivatoren beteiligen können, die nun ihrerseits wieder frei oder gebunden an dem kollaidalen Träger sein können. Am deutlichsten tritt die geschilderte Schwierigkeit in Erscheinung, wenn man bedenkt, daß selbst die Isolierung einer kristallisierten Eiweiß-Substanz, die unzweifelhaft starke Ferment-Wirkung hat, wie die der Urease von Sumner,[11]) nicht zur Charakterisierung der Urease als solcher hat führen können, nachdem festgestellt worden ist, daß der proteolytische Abbau der Urease durch tryptisches Enzym möglich ist,[12]) ohne die ureatische Wirkung der ursprünglich kristallisierten Urease zu vernichten.

Meine Aufgabe war es nun, die experimentellen Unterlagen, welche früher von Pringsheim und Leibowitz erbracht worden sind, nachzuprüfen und zu erweitern. Weidenhagen, welcher mit einer Enzymlösung aus Aspergillus orycae gegenüber α-Methylglukosid nur einen qualitativen Versuch ausführte,[13]) beanstandet im Prinzip die Versuche von Leibowitz durch die Annahme, daß das Ausbleiben der Spaltung von α-Methylglukosid auf die Verwendung von Ferment-Präparaten mit zu wenig Maltase-Einheiten zurückzuführen sei. An derselben Stelle bestreitet er auch, daß der Auszug aus gekeimter Gerste keine α-Glukosidase enthält. Die schon in der theoretischen Einleitung angezogenen Versuche mit Aspergillus Wentii, in dessen Mycel vor 23 Jahren[14]) eine Maltase aufgefunden wurde, stammen von mir. Die Pilze wurden, wie im experimentellen Teile beschrieben, auf sterilem Rosinenmost unter Zusatz von Rohrzucker herangezogen und in Gestalt eines Pilztrockenpräparates, eines wäßrigen Auszuges aus dem frischen Mycel oder als Pilzpreßsaft zur Verwendung gebracht.

Um dem besonderen Einwand von Weidenhagen zu begegnen, daß nämlich meine Ferment-Präparate zu enzymarm wären, habe ich eine nach Willstätter gewonnene Hefe-Maltase auf die in meinem Enzym enthaltene Maltase-Einheit gebracht und dann jeweils die beiden Fermente unter sonst gleichen Bedingungen bei denselben Temperatur- und Konzentrationsverhältnissen die gleiche Zeitdauer auf Maltase-Lösungen von der gleichen Acidität von pH—5,2 zum

---

11) Sumner, Journ. of Biol. Chem. **69**, 435, 70, (1926); und weitere Mitteilungen zuletzt Summer u. Kirk, Z. f. physiol. Chem. **205**, 210, 1932.

12) Waldschmidt-Leitz u. Steegerwall, Z. f. physiol. Chem. **195**, 260, 1931; **206**, 133, 1932.

13) Weidenhagen, Zschr. d. Vereins deutscher Zuckerindustrie **78**, 795, 1929.

14) Pringsheim u. Zemplén, Z. f. physiol. Chem. **62**, 367, 1909.

Ansatz gebracht. Hierbei zeigte sich, daß das Ferment der Takadiastase und des Aspergillus Wentii Maltose über 30 bis 40%, α-Methylglukosid jedoch gar nicht spaltete, während die Hefe-Maltase selbst unter der für sie nicht günstigen Aciditätsbedingung eine höhere Spaltung des α-Methylglukosids als der Maltose ausübte. Diese Versuche sind zwischenlaufend von Myrbäck bestätigt worden.[15])

Es gäbe gegen meinen Befund noch einen weiteren, wenn auch sehr weit hergeholten Einwand, daß nämlich infolge der Anwesenheit von Begleitstoffen, die Spaltungsmöglichkeit des α-Methylglukosids in einen anderen Aciditätsbereich verschoben sein könnte. Aber auch dieses traf nicht zu, da α-Methylglukosid von den Pilz-Fermenten auch bei pH 4, pH 6 und pH 6,8 nicht gespalten wurde.

Zu ganz parallelen Ergebnissen gelangte ich mit dem Auszug des mir zur Verfügung stehenden Gerstenmalzes, dessen Maltase-Einheit gleichfalls mit der der Hefe verglichen wurde; hierbei zeigte sich, daß der Malzauszug α-Methylglukosid nicht spaltete, während Maltose z. B. nach 24 Stunden einer 74%igen Spaltung unterlag.

Die Versuche von Leibowitz, die diesen zu der Annahme des Vorhandenseins einer Gluko-Maltase in dem angezogenen Ferment-Präparate veranlaßte, wurden also von mir durchaus bestätigt. Es ist anzunehmen, daß ein derartiges Ferment in der Natur häufig vorkommt und aller Wahrscheinlichkeit nach in tierischen Organen vorhanden ist, was man aus älteren Versuchen von Emil Fischer ablesen kann.

Um noch weiteren Einblick in die Spezifität der Glukosido- und Gluko-Maltase zu gewinnen, habe ich noch 2 Natur-fremde Substrate, das Maltoson und die Maltobionsäure herangezogen. Schon Emil Fischer gibt an,[16]) daß Maltoson durch die Fermente der Hefe in Glukose und Glukoson gespalten wird, was ich bestätigen konnte. Die Umwandlung der 2-ständigen sekundären Alkoholgruppe in eine Carbonylgruppe hindert also die Spaltung durch das Hefe-Ferment nicht; dies wäre ganz den Erwartungen entsprechend, wenn ebenfalls die Maltobionsäure, die ich in Gestalt ihres Calciumsalzes als Substrat verwandte, durch die Hefe-Maltase angegriffen worden wäre. Dies war aber nicht der Fall, so daß hier also schon die Veränderung des Glukose-Teils in 1-Stellung den Angriff der Glukosido-Maltose gehindert hat.

Wie unsicher es ist, die spezifische Einstellung der Saccharasen scharf zu präzisieren, geht aus der Prüfung der Fermente des Asper-

15) Myrbäck, Z. f. physiol. Chem. **205**, 248, 1932.
16) Emil Fischer u. Armstrong, Ber. **35**, 3141, 1902.

gillus orycae und Wentii gegenüber Maltobionsäure und Maltoson hervor. Die Glukomaltase des Aspergillus Wentii ist nämlich auf Maltoson unwirksam, wohingegen die Taka-Fermente dieses Substrat spalten. Hierbei bleibt natürlich unentschieden, ob nicht in beiden Fällen die Veränderung des Glukose-Teils der Maltose den Eingriff der Glukomaltase hindert und das Maltoson ein besonderes spezifisches Substrat für ein in der Takadiastase vorhandenes Enzym abgegeben hat. Hier scheint es noch gezwungener, die Wirkung der Gluko-Maltase zuzuschreiben.

Nachstehende Zusammenstellung erleichtert die Uebersicht.

	Gersten-maltase	Taka-diastase	Asperg. Wentii	Hefe-maltase
Maltose	+	+	+	+
α-Methylglukosid	—	—	—	+
Ca-Maltobionat		+	+ (schwach)	—
Maltoson		+	—	+

In einer in Emil Fischers Laboratorium ausgeführten Arbeit von Kalanthar[17]) wird angegeben, daß die Fermentauszüge verschiedener Hefen unter gewissen Versuchsbedingungen α-Methylglukosid, aber nicht Maltose spalten. Ich wählte die hierfür nach Kalanthar geeigneten Weinhefen, nämlich Aßmannshauser und Steinberg aus, die ich wie er von der Hefereinzuchtstation Geisenheim (Rhld.) bezog und mir auf Rosinenmost heranzüchtete. Nach der Autolyse mit Essigester[18]) fand ich bei der Assmannshauser Hefe keine durch Reduktionsbestimmung feststellbare Spaltung von α-Methylglukosid und Maltose, bei der Steinberghefe eine schwache Hydrolyse beider Substrate. Die Versuche von Kalanthar scheinen demnach den heutigen Prüfungsmethoden nicht standzuhalten, so daß sie zu der Feststellung der Uebereinstimmung der α-Glukosidase und Hefe-Maltase nicht in Widerspruch[19]) gesetzt werden können.

Bei derartigen Untersuchungen ist es jedoch nicht ohne weiteres angängig, den Ferment-Gehalt verschiedener Mycel-Pilze untereinander zu vergleichen, da er ja auch nach der Rasse wechseln kann: So war ich einmal im Besitze einer Takadiastase, die etwas α-Glukosidase enthielt. Ferner stellte ich fest, daß entgegen den früheren Versuchen in einem neuerdings aus dem Zentralbureau für Schimmelpilzkultur in Baarn (Holland) bezogenen Peni-

17) A. Kalanthar, Z. f. physiol. Chem. **26**, 88, 1898.
18) Willstätter u. Steibelt, ebenda, **111**, 157, 1921.
19) Willstätter, Kuhn u. Sobotka, ebenda, **134**, 224, 1924.

cillium purpurogenum ein Rohrzucker-spaltendes Ferment vorhanden war, andererseits spaltete der kürzlich vom Institut für Gärungsgewerbe erhaltene Aspergillus Wentii Raffinose nicht wie früher vollkommen in Glukose, Fruktose und Galaktose, sondern nur in Fruktose und Melibiose.

Experimenteller Teil.

Taka-Maltase.

100 ccm einer 4proz. Lösung käuflicher Taka-Diastase wurden in einem Cellophansäckchen bis zum Verschwinden der Reduktionskraft 72 Stunden gegen destilliertes Wasser dialysiert und als Fermentlösung verwandt. Es wurde für alle Versuche folgender Ansatz benutzt:

5 ccm 1%ige Maltoselösung bezw. 1%ige α-Methylglukosid-Lösung, 5 ccm Pufferlösung, 10 ccm Fermentlösung, Versuchstemperatur 38°, Versuchsdauer wechselnd. Die Wirksamkeit des Ferments wurde durch Titration von 5 ccm nach Bertrand bestimmt. Jede Probe wurde vorher nach Folin und Wu mit Natriumwolframat enteiweißt.

Versuch I.

Prüfung der Takadiastaselösung gegen Maltose (Versuchsdauer 6 Stunden) und α-Methylglukosid (Versuchsdauer 24 Stunden).

Maltosespaltung bei p_H 5,2 (Phosphat)

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
6	22,3	66

α-Methylglukosidspaltung bei p_H 5,2 (Phosphat)

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
24	—	—

Ich führte denselben Versuch während 4 Stunden durch, damit die Spaltung noch in den Bereich der monomolekularen Reaktion fällt, um einen einwandfreien Vergleich mit der Hefemaltase zu ermöglichen.

Versuch II.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
4	19,1	40

Ich stellte eine Hefemaltase nach Willstätter[20]) dar, die in unverdünntem Zustande nach meinem Ansatz bei pH 5,2 während 4 Stunden Maltose und α-Methylglukosid zu etwa 70% spaltete. Sie wurde dann so verdünnt, daß ihre Maltosespaltung ungefähr der Maltose-Spaltung durch die Pilzmaltasen entsprach.

Versuch III.

Versuchsdauer 4 Stunden.

Spaltung durch			
Takamaltase		Hefemaltase	
Maltose	α-Methylglukosid	Maltose	α-Methylglukosid
%Spaltung	%Spaltung	%Spaltung	%Spaltung
40	—	40	49

Versuch IV.

Spaltungsversuch des α-Methylglukosids durch Takamaltase bei verschiedenem pH (Versuchsdauer 24 Stunden).

pH	mg Cu	%Spaltung
4,0	—	—
5,2	—	—
6,0	—	—
6,8	—	—

Es wurde gezeigt, daß die geringe auftretende Reduktionskraft durch Einwirkung der Pufferlösung auf die Fermentlösung bei 38° während 24 Stunden zurückzuführen ist.

Diese Versuche zeigen also, daß das α-Methylglukosid von der Takamaltase im Gegensatz zur Hefemaltase nicht gespalten wird.

Aspergillusmaltase.

Zur Gewinnung des Mycels wurde eine Reinkultur des Aspergillus Wentii auf eine sterilisierte aus Rosinenmost und Rohrzucker (5%) bestehende Nährlösung (Acidität: p_H = 4,5) in Erlenmeyerkolben abgeimpft. Der Bodendurchmesser der mit je 100 ccm Nährlösung beschickten Kolben betrug etwa 15 cm. Nach durchschnittlich einwöchentlichem Wachstum bei 27° wurde der Pilz geerntet, mit Wasser gewaschen, das Wasser in der Handpresse abgepreßt, die Waschung und Pressung wiederholt und das Ferment auf drei verschiedene Arten gewonnen: als im Exsiccator getrocknetes Trockenmycel, als wässriger Auszug und als Pilzpreßsaft.[21])

20) Willstätter u. Steibelt, Z. f. physiol. Chem. **111**, 168, 1921.

21) Vgl. Z. f. physiol. Chemie **62**, 375, 1909.

A. Versuche mit Trockenpilz.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltoselösung bezw. α-Methylglukosidlösung, 5ccm Pufferlösung, 200 mg Trockenpilz, 10 ccm Wasser, 5 ccm wurden nach vorheriger Enteiweißung nach der Zuckertitration von Bertrand titriert.

Versuch V.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid bei p_H 6.

Maltosespaltung

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	19,4	42

α-Methylglukosidspaltung

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Versuch VI.

Spaltungsversuch des α-Methylglukosids bei verschiedenem p_H(Versuchsdauer 48 Stunden).

p_H	mg Cu	%Spaltung
4,0	—	—
4,5	—	—
5,0	—	—
6,0	—	—
7,0	—	—
7,5	—	—

B. Versuche mit wässrigem Pilzauszug.

Der Inhalt von 7 Kolben wurde nach der schon oben angegebenen Vorbehandlung mit Sand zerrieben, mit wenig Toluol-Wasser im Eisschrank stehen gelassen, dann abfiltriert und auf 50 ccm mit Wasser aufgefüllt.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltose- bezw. α-Methylglukosidlösung. 5 ccm Pufferlösung p_H = 6,0, 5 ccm Pilzauszug, 5 ccm Wasser. Es wurden wieder 5 ccm der Lösung titriert.

Versuch VII.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	16,7	26

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

C Versuche mit Pilzpreßsaft.

Nach dem 24stündigen Stehen des zerriebenen Mycels mit etwas Wasser im Eisschrank wurde der Pilz in der hydraulischen Presse unter 300 Atm. Druck abgepreßt. Bei Versuch VIII wurde der Preßsaft von 7 Kolben genommen und auf 50 ccm mit Wasser aufgefüllt, bei Versuch IX und X wurde der Inhalt von je 27 Kolben verwendet und auf 100 ccm aufgefüllt.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltose- bezw. α-Methylglukosidlösung, 5 ccm Pufferlösung, 10 ccm Preßsaft.

Versuch VIII.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid bei p_H 5,0.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
48	22,1	64

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Versuch IX.

Versuchsdauer 4 Stunden.

Spaltung durch

Aspergillusmaltase		Hefemaltase	
Maltose %Spaltung	α-Methylglukosid %Spaltung	Maltose %Spaltung	α-Methylglukosid %Spaltung
31	—	40	49

Die hohe enzymatische Wirksamkeit dieses Preßsaftes ermöglichte mir einen eindeutigen Vergleich mit der Wirksamkeit der Hefemaltase auf Maltose und α-Methylglukosid.

Versuch X.

Spaltungsversuch des α-Methylglukosids bei verschiedenem pH
(Versuchsdauer 36 Std.)

pH	mg Cu	%Spaltung
4,0	—	—
5,2	—	—
6,0	—	—
6,8	—	—

Die Versuche zeigen, daß α-Methylglukosid von der Aspergillusmaltase im Gegensatz zur Hefemaltase nicht gespalten wird.

Gerstenmaltase.

50 g Darrmalz (Byk Gulden-Werke) wurden mit 150 ccm Wasser und etwas Toluol 48 Stunden im Eisschrank aufbewahrt und 75 ccm der abgesaugten Lösung in einem Cellophansäckchen gegen destilliertes Wasser dialysiert; nach 48 Stunden betrug das Volumen 95 ccm.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltose- bezw. 1%ige α-Methylglukosidlösung, 5 ccm Pufferlösung pH 5,2, 10 ccm Fermentlösung. Versuchstemperatur 38°. Die Wirksamkeit des Fermentes wurde durch Titration von 5 ccm nach Bertrand bestimmt, wozu jede Probe vorher nach Folin und Wu mit Natriumwolframat enteiweißt worden ist.

Versuch XI.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	23,20	74

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
24	—	—
240	—	—

Eine Hefemaltase, die ich nach Willstätter gewann, spaltete Maltose bei pH 5,2 im selben Ansatz in 24 Stunden zu 71%, dahingegen α-Methylglukosid zu 77%.

Versuche mit Maltosazon und Maltobionsäure.

Zum Vergleiche wurde in den nachstehenden Versuchen noch einmal die Spaltung der Maltose und des α-Methylglukosids herangezogen.

Takamaltase.

Als Fermentlösung diente eine 4proz. Takadiastaselösung, die nach 72stündiger Dialyse in einem Cellophansäckchen gegen destilliertes Wasser keine Reduktion mehr zeigte.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltoselösung, bezw. 5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, bezw. 5 ccm 1%ige Calciummaltobionatlösung, bezw. 5 ccm 1%ige Maltosonlösung (außer Versuch XIV), 10 ccm Fermentlösung, 5 ccm Pufferlösung. Versuchstemperatur 38°.

Bei Maltose, α-Methylglukosid und Calciummaltobionat ermittelte ich die Spaltung in 5 ccm Ansatz durch Titration nach Bertrand. Bei Maltoson und zur Kontrolle auch bei Calciummaltobionat wurde die Spaltung durch die Unlöslichkeit des im Spaltungsfalle in bekannter Weise leicht gewinnbaren Glukosazons in heißem Wasser sichergestellt. In Blindversuchen ist festgestellt worden, daß Pufferlösungen von der Acidität pH 5,2, 6,2 und 6,8 keine spaltende Wirkung auf Calciummaltobionat und Maltoson ausüben, wozu ich bei allen Versuchen mit Calciummaltobionat Salzsäure-Natronpuffer verwendete, um eine Wirkung des Phosphatpuffers auf das Substrat zu vermeiden.

Versuch XII.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid bei pH 5,0 (Citrat)

Maltosespaltung

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	24,16	82

α-Methylglukosidspaltung

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Versuch XIII.

Spaltung von Calciummaltobionat und Maltoson bei pH 5,2.

Calciummaltobionatspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
24	4,2	32

Maltosonspaltung.

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
24	+	+

Versuch XIV.

Ansatz: 25 ccm Fermentlösung, 5 ccm Puffer pH 5,2, 300 mg Calciummaltobionat. Untersucht wurden 10 ccm Ansatz.

Spaltung von Calciummaltobionat.

Zeit in Stunden	mg Cu	unlösl. Glukosazon	%Spaltung
0	—	—	—
24	35,0	+	36,3

Maltase aus Aspergillus Wentii.

Das Ferment wurde in Form des Pilzpreßsaftes gewonnen. Die Fermentlösungen (100 ccm) stammen bei Versuch XV, XVI und XVII aus einer Reinkultur in je 22 Erlenmeyerkolben.

Ansatz: 5 ccm 1%ige Maltoselösung, bezw. 5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, bezw. 5 ccm 1%ige Calciummaltobionatlösung, bezw. 5 ccm 1%ige Maltosonlösung, 5 ccm Puffer, 10 ccm Fermentlösung, 5 ccm wurden titriert, bezw. auf Glukosazon untersucht.

Versuch XV.

Spaltung von Maltose, α-Methylglukosid, Calciummaltobionat und Maltoson. (pH 5,2.)

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	22,25	66

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
36	—	—

Zum Vergleich mit Hefemaltase vgl. Versuch XI.

Calciummaltobionatspaltung.

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
36	+	+

Maltosonspaltung.

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
36	—	—

Um die lästige Eigenreduktion des Preßsaftes auszuschalten, wurde dieser bei Versuch XVI 48 Stunden in einem Cellophansäckchen gegen destilliertes Wasser dialysiert. Das Volumen der Lösung betrug nach der Dialyse 80 ccm.

Ansatz: 10 ccm Fermentlösung, 5 ccm 1%ige Maltoselösung, bezw. 5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, bezw. 5 ccm 4%ige Calciummaltobionatlösung, bezw. 5 ccm 4%ige Maltosonlösung, 5 ccm Pufferlösung. Versuchstemperatur 38°. Untersucht wurden 5 ccm des Ansatzes.

Versuch XVI.

Spaltung von Maltose, α-Methylglukosid, Calciummaltobionat und Maltoson. (p_H 5,2.)

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	19,17	40

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
24	—	—

Eine Hefemaltase, nach Willstätter gewonnen, die im selben Ansatz Maltose bei p_H 6,8 zu 40% spaltete, hydrolysierte α-Methylglukosid in der gleichen Zeit zu 51 %.

Calciummaltobionatspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	unlösl. Glukosazon	%Spaltung
0	—	—	—
24	2,16	?	4

Maltosonspaltung

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
24	—	—

Bei Versuch XVII wurde im Ansatz mehr Fermentlösung verwendet und die Spaltung von Calciummaltobionat und Maltoson bei verschiedenen Aciditäten untersucht.

Ansatz: 15 ccm Fermentlösung, 5 ccm Puffer, 200 mg Maltose, bezw. Maltoson, bezw. Calciummaltobionat. Untersucht wurden 5 ccm.

Versuch XVII.

Spaltung von Maltose, Calciummaltobionat und Maltoson.

Maltosespaltung bei pH 5,2.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	55,4	—
24	95,35	79

Calciummaltobionatspaltung

bei pH 5,2, 6,2, 6,8.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
24	3,5	7 (bei den 3 Aciditäten)

Maltosonspaltung (pH 5,2, 6,2, 6,8).

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
24	—	—

Hefemaltase.

Die Hefemaltase wurde aus frisch abgepreßter Brauereihefe durch Autolyse mit Hilfe von Essigester nach Willstätter und Steibelt gewonnen und bei Versuch XVIII das Autolysat von 50 g Hefe auf 300 ccm Lösung verdünnt.

Ansatz: 5 ccm 1% Maltoselösung, bezw. 5 ccm 1% Calciummaltobionatlösung, bezw. 5 ccm 1%ige Maltosonlösung, 5 ccm Puffer, 10 ccm Hefemaltase. Versuchstemperatur 38°.

Versuch XVIII.

Spaltung von Maltose, Calciummaltobionat und Maltoson (p_H 5,2)

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
24	22,88	71

Calciummaltobionatspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	unlösl. Glukosazon	%Spaltung
0	—	—	—
24	—	—	—

Maltosonspaltung.

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
24	?	?

In Versuch XIX wurden 100 g Brauereihefe auf 150 ccm Lösung wiederum nach Willstätter und Steibelt verarbeitet.

Ansatz: 5 ccm 4%ige Maltoselösung, bezw. 5 ccm 4%ige Calciummaltobionatlösung, bezw. 5 ccm 4%ige Maltosonlösung, 5 ccm Puffer (bei Calciummaltobionat und Maltoson p_H 5,2, 6,2 und 6,8), 10 ccm Hefemaltase.

Versuch XIX.

Spaltung von Maltose, Calciummaltobionat und Maltoson.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	55,4	—
6	85,82	59

Calciummaltobionatspaltung (p_H 5,2, 6,2 und 6,8).

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Maltosonspaltung (p_H 5,2, 6,2, 6,8).

Zeit in Stunden	unlösl. Glukosazon	Spaltung
0	—	—
24	+	+
48	+	+

Aus 400 mg Maltoson wurden 213 mg. Glukosazon gewonnen.

Aspergillusraffinase.

Die Prüfung auf die Spaltung der Raffinose wurde nicht nur wie früher durch die Osazonreaktion erwiesen, sondern auch durch die Bertrand-Titration gesichert. Ich beobachtete im günstigsten Falle eine 66,7%ige Spaltung der Raffinose auf Glukose berechnet, während nach der additiven Berechnung Melibiose und Fruktose 69,6% hätten ergeben müssen. Stellte ich jedoch die der Raffinoseeinwage entsprechende Menge Fruktose und Melibiose zusammen, so erhielt ich eine Reduktionskraft entsprechend 66,2%, so daß also auch hierdurch eine theoretische Spaltung erwiesen wird.

Versuch XX.

Raffinose- und Melibiosespaltung mit Pilzmycel bei pH 5,5.

Ansatz: 125 mg Raffinose bezw. Melibiose, 5 ccm Pufferlösung, 20 ccm Wasser, 85 mg Pilz. 5 ccm wurden titriert.

Raffinosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	33,7	66,8

Melibiosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	24,8	—
48	24,8	—

Versuch XXI.

Raffinose- und Melibiosespaltung mit wäßrigem Pilzauszug bei verschiedenem p_H

Ansatz: 5 ccm 2,5%ige Raffinoselösung bezw. Melibioselösung, 5 ccm Auszug, 5 ccm Pufferlösung, 10 ccm Wasser; 5 ccm wurden titriert. Versuchsdauer 48 Stunden.

Raffinosespaltung.

pH	mg Cu	%Spaltung
4,5	33,06	65,6
5,0	33,70	66,8
5,5	33,06	65,6
6,0	33,06	65,6
6,5	32,40	64,4

Melibiosespaltung.

p_H	mg Cu	%Spaltung
4,5	24,8	—
5,0	24,8	—
5,5	24,8	—
6,0	24,8	—
6,5	24,8	—

Versuch XXII.

Raffinosespaltung mit variierter Menge vom wäßrigen Pilzauszug bei p_H 5,5,

Ansatz: I: 125 mg Raffinose, 5 ccm Pufferlösung, 20 ccm Auszug.

Spaltung: 64,4 %.

Ansatz II: 125 mg Raffinose, 5 ccm Pufferlösung, 15 ccm Auszug, 5 ccm Wasser.

Spaltung: 63,2 %.

Ansatz III: 125 mg Raffinose, 5 ccm Pufferlösung, 10 ccm Auszug, 10 ccm Wasser.

Spaltung: 62 %.

Versuch XXIII.

Raffinose- und Melibiosespaltung mit Pilzpreßsaft.

Raffinosespaltung.

Ansatz: 125 mg Raffinose, 5 ccm pH 6,0, 10 ccm Preßsaft, 10 ccm Wasser.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	32,4	64,4

Melibiosespaltung.

Ansatz: 50 mg Melibiose, 10 ccm Pufferlösung (p_H 4,5 und p_H 6,0), 5 ccm Preßsaft.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	16,5	—
48	16,5	—

Diese Versuche zeigen, daß Aspergillus Wentii die Melibiose nicht spaltet und Raffinose in Melibiose und Fruktose spaltet. Die Osazonprobe bestätigte diese Ergebnisse.

Versuche mit Aßmannshauser- und Steinberghefe.

Nach etwa 5tägigem Wachstum der in einer Rosinenmostnährlösung herangezüchteten Weinhefen wurde die Nährlösung ab-

gehebert und die Hefe so oft mit destilliertem Wasser abzentrifugiert, bis das Wasser keine Reduktionswirkung auf Fehlingsche Lösung mehr ausübte. Dies war nach dreimaligem Abwaschen der Fall.

A. Versuche mit frischer Naßhefe.

Die beiden Hefearten wurden in je 750 ccm Nährlösung herangezogen und nach der oben beschriebenen Reinigung auf je 50 ccm Wasser verteilt.

Ansatz: 10 ccm Aßmannshauser- bzw. Steinberghefe, 5 ccm 1%ige Maltoselösung bezw. 5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, 5 ccm Puffer p_H = 6,8.

Versuch XXIV.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
48	13,9	—

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Sowohl die Aßmannshauser- als auch die Steinberghefe konnten als frische Naßhefe verwendet Maltose- und α-Methylglukosidlösung nicht spalten.

B. Versuche mit durch Essigester autolysierter Hefe.

Ich züchtete die beiden Hefen in je 13 Liter Rosinenmostnährlösung; um die Enzyme freizulegen, wurden die frischen Naßhefen mit Essigester nach Willstätter behandelt und dann mit Wasser verdünnt. Die eine Hälfte jedes Autolysates wurde mit verdünntem Ammoniak neutralisiert, um eine eventuelle Schädigung des Enzyms durch sich bildende Säure zu verhindern, die andere nach der Abtötung mit Puffer (Citrat p_H 5,0) versetzt.

Aßmannshauser Hefe.

(7,5 g Naßhefe in 20 ccm Lösung.)

Ansatz: 5 ccm Fermentlösung (mit NH_3 neutral.), 2,5 ccm 1%ige Maltoselösung bezw. 2,5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, 2,5 ccm Puffer p_H 6,8.

Versuch XXV.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
48	13,9	—

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	—	—

Auch der nicht mit Ammoniak neutralisierte Fermentauszug der Aßmannshauser Hefe vermochte Maltose und α-Methylglukosid bei p_H 5,0 (Citrat) unter sonst gleichen Bedingungen wie bei Versuch XXIV nicht zu spalten.

Steinberghefe.

(6 g Naßhefe in 20 ccm Lösung.)

Ansatz: 5 ccm Fermentlösung (mit NH_3 neutral.) 2,5 ccm 1%ige Maltoselösung, bezw. 2,5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, 2,5 ccm Phosphatpuffer p_H 6,8.

Versuch XXVI.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
48	16,2	20

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	1,9	7

Ansatz: 5 ccm Fermentlösung (nicht mit NH_3 neutral., aber mit Citratpuffer p_H 5,0 versetzt), 2,5 ccm 1%ige Maltoselösung bezw. 2,5 ccm 1%ige α-Methylglukosidlösung, 2,5 ccm Puffer p_H 5,0.

Versuch XXVII.

Spaltung von Maltose und α-Methylglukosid.

Maltosespaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	13,9	—
48	13,9	—

α-Methylglukosidspaltung.

Zeit in Stunden	mg Cu	%Spaltung
0	—	—
48	1,9	7

Die Steinberghefe enthält sowohl Maltase als auch α-Methylglukosidase. Daß es nicht gelang, Maltose auch bei p_H 5,0, sondern nur bei p_H 6,8 zu spalten, ist auf die Empfindlichkeit der Maltase gegen die saure Reaktion zurückzuführen.

Diese Arbeit wurde in der Zeit vom Dezember 1931 bis Februar 1932 ausgeführt.

Es sei mir erlaubt, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Pringsheim, für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Fritz Löw, geboren am 21. Juni 1907 zu Kirchheimbolanden als Sohn des Kaufmanns Moritz Löw und seiner Ehefrau Klara, geb. Straus, besuchte dort 5 Jahre lang das Progymnasium, trat dann zur Oberrealschule über und bestand Ostern 1927 die Reifeprüfung an der Oberrealschule Alzey. Ich studierte Chemie in Würzburg, Frankfurt a. M. und Berlin. Mein Verbandsexamen legte ich ab im Sommersemester 1929 in Frankfurt a. M. und im Sommersemester 1930 in Berlin. Vorlesungen hörte ich bei den Herren Professoren Bodenstein, Borsche, v. Braun, Dessoir, Dimroth, Leuchs, Magnus, Pringsheim, Schlenk, Schwarz, Thoms und Wachsmuth.

Fritz Löw.

Franz Linke, Buchdruckerei, Berlin NW 6, Marienstr. 13.